

# 证 明

REC'D 24 SEP 2003

WIPO

PCT

本证明之附件是向本局提交的下列专利申请副本

申 请 日： 2003 08 08

申 请 号： 03 1 53215.2

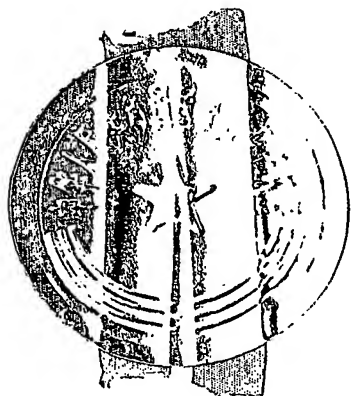
申 请 类 别： 发明

发明创造名称： 一种纳米荧光磁粒及其制备方法

申 请 人： 清华大学；北京博奥生物芯片有限责任公司

发明人或设计人： 卢华昌；衣光舜；陈德朴；郭良宏；程京

**PRIORITY  
DOCUMENT**  
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)



中华人民共和国  
国家知识产权局局长

王景川

2003 年 9 月 8 日

# 权利要求书

1、一种纳米荧光磁粒，是一种包括核颗粒，且小于1微米的纳米颗粒，所述核颗粒包括磁性物质和荧光物质。

2、根据权利要求1所述的纳米荧光磁粒，其特征在于：所述纳米荧光磁粒小于750纳米。

3、根据权利要求1所述的纳米荧光磁粒，其特征在于：所述纳米荧光磁粒小于500纳米。

4、根据权利要求1所述的纳米荧光磁粒，其特征在于：所述纳米荧光磁粒小于300纳米。

5、根据权利要求1所述的纳米荧光磁粒，其特征在于：所述纳米荧光磁粒为35-200纳米。

6、根据权利要求1所述的纳米荧光磁粒，其特征在于：所述纳米荧光磁粒为80-200纳米。

7、根据权利要求1所述的纳米荧光磁粒，其特征在于：所述磁性物质包括超顺磁、顺磁或者铁磁性物质。

8、根据权利要求1所述的纳米荧光磁粒，其特征在于：所述磁性物质包括金属氧化物。

9、根据权利要求8所述的纳米荧光磁粒，其特征在于：所述金属氧化物为铁，钴，镍和锰氧化物中的一种或其任意组合。

10、根据权利要求8所述的纳米荧光磁粒，其特征在于：所述铁氧化物为 $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 。

11、根据权利要求8所述的纳米荧光磁粒，其特征在于：所述铁氧化物为 $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ 。

12、根据权利要求1所述的纳米荧光磁粒，其特征在于：所述纳米荧光磁粒的饱和磁化强度为 $5\text{emu/g}$ - $60\text{emu/g}$ 。

13、根据权利要求1所述的纳米荧光磁粒，其特征在于：所述荧光物质为荧光染料，荧光金属有机化合物，上转换荧光材料，下转换荧光材料和量子点荧光材料中的一种或其任意组合。

14、根据权利要求13所述的纳米荧光磁粒，其特征在于：所述上转换荧光材料是氟化物荧光材料。

15、根据权利要求14所述的纳米荧光磁粒，其特征在于：所述氟化物荧光材料的分子式是 $\text{YF}_3:\text{Yb}, \text{Er}$ 。

16、根据权利要求14所述的纳米荧光磁粒，其特征在于：所述氟化物荧光材料

5  
的分子式是  $\text{NaYF}_4:\text{Yb}, \text{Er}$ 。

17、根据权利要求 13 所述的纳米荧光磁粒，其特征在于：所述上转换荧光材料包括钼酸盐荧光材料。

18、根据权利要求 13 所述的纳米荧光磁粒，其特征在于：所述下转换荧光材料是  $\text{CaS}:\text{Eu}^{3+}$  或  $\text{SiAlO}_2:\text{Eu}^{3+}$ 。

19、根据权利要求 13 所述的纳米荧光磁粒，其特征在于：所述量子点荧光材料是  $\text{CdSe}/\text{CdS}$ ， $\text{ZnS}/\text{CdSe}$ ，和  $\text{GaAs}$  中的一种或其任意组合。

20、根据权利要求 13 所述的纳米荧光磁粒，其特征在于：所述荧光物质为荧光纳米颗粒。

21、根据权利要求 20 所述的纳米荧光磁粒，其特征在于：所述荧光纳米颗粒为掺杂荧光染料或者量子点荧光材料的高分子颗粒或二氧化硅颗粒。

22、根据权利要求 1 所述的纳米荧光磁粒，其特征在于：所述核颗粒包括表面包覆荧光材料的磁性颗粒。

23、根据权利要求 1 所述的纳米荧光磁粒，其特征在于：所述核颗粒包括表面包覆磁性物质的荧光颗粒。

24、根据权利要求 1 所述的纳米荧光磁粒，其特征在于：所述核颗粒包括掺杂磁性物质的荧光颗粒。

25、根据权利要求 1 所述的纳米荧光磁粒，其特征在于：所述核颗粒包括掺杂荧光物质的磁性颗粒。

26、根据权利要求 1 所述的纳米荧光磁粒，其特征在于：所述核颗粒包括磁性颗粒，荧光颗粒和将这两种颗粒交联起来的物质。

27、根据权利要求 26 所述的纳米荧光磁粒，其特征在于：所述交联物质为二氧化硅。

28、根据权利要求 1 所述的纳米荧光磁粒，其特征在于：所述核颗粒具有包覆层。

29、根据权利要求 28 所述的纳米荧光磁粒，其特征在于：所述包覆层为二氧化硅。

30、根据权利要求 1 所述的纳米荧光磁粒，其特征在于：所述纳米荧光磁粒表面修饰有官能团。

31、根据权利要求 30 所述的纳米荧光磁粒，其特征在于：所述官能团是  $-\text{COOH}$ ， $-\text{CHO}$ ， $-\text{NH}_2$ ， $-\text{SH}$ ， $-\text{S}-\text{S}-$ 或环氧基。

32、根据权利要求 1 所述的纳米荧光磁粒，其特征在于：所述纳米荧光磁粒连接有生物分子。

33、根据权利要求 32 所述的纳米荧光磁粒，其特征在于：所述生物分子通过共价键与所述纳米荧光磁粒连接。

34、根据权利要求 32 所述的纳米荧光磁粒，其特征在于：所述生物分子是氨基酸，肽，蛋白质，核苷，核苷酸，寡聚核苷酸，核酸，维生素，单糖，低聚糖，多糖和脂类中的一种或其复合物。

35、一种制备包括包覆有氟化物荧光材料的磁性颗粒的纳米荧光磁粒的方法，包括下述步骤：

1) 将纳米磁性颗粒和水溶性氟化物同时溶解分散在去离子水中；

2) 将所述步骤 1) 中的溶液加入另一溶液中，搅拌，以在所述纳米磁性颗粒表面形成氟化物沉淀包覆物；所述另一溶液包括发光基质可溶性盐、吸收剂/发光中心对和金属螯合物；

3) 将步骤 2) 所述纳米磁性颗粒和沉淀包覆物在  $300^{\circ}\text{C}$ - $450^{\circ}\text{C}$  煅烧 1-10 小时，得到表面包覆氟化物的纳米荧光磁性颗粒，所述氟化物能在长波长的红外光下激发下而发射可见光。

36、根据权利要求 35 所述的方法，其特征在于：所述步骤 1) 中的纳米磁性颗粒和可溶性氟化物通过超声法分散在去离子水中。

37、根据权利要求 35 所述的方法，其特征在于：所述步骤 3) 中得到的表面包覆氟化物的纳米荧光磁性颗粒还包括一个包覆层。

38、根据权利要求 37 所述的方法，其特征在于：所述包覆层包括二氧化硅。

39、根据权利要求 35 所述的方法，其特征在于：所述纳米荧光磁粒表面修饰有官能团。

40、根据权利要求 39 所述的方法，其特征在于：所述官能团为  $-\text{COOH}$ ， $-\text{CHO}$ ， $-\text{NH}_2$ ， $-\text{SH}$ ， $-\text{S}-\text{S}-$ 或环氧基。

41、根据权利要求 35 所述的方法，其特征在于：所述发光基质为钇，镧，钕。

42、根据权利要求 35 所述的方法，其特征在于：所述吸收剂是镱；所述发光中心为铕，钬，铽，铽。

43、根据权利要求 35 所述的方法，其特征在于：所述稀土金属螯合物为乙二胺四乙酸 (EDTA) 及其钠盐，二乙三胺五乙酸 (DTPA) 及其钠盐，羟乙基乙二胺三乙酸 (HEDTA) 及其钠盐，1, 2-二胺基环己烷四乙酸 (DCTA) 及其钠盐，乙二醇二乙醚二胺四乙酸 (EGTA) 及其钠盐，三乙其四胺六乙酸 (TTHA) 及其钠盐中的一种。

44、根据权利要求 35 所述的方法，其特征在于：所述水性氟化物为  $\text{NaF}$ ， $\text{KF}$ ， $\text{NH}_4\text{F}$  和  $\text{HF}$  中的一种。

45、根据权利要求 35 所述的方法，其特征在于：所述水溶性氟化物预先溶解或者同时和稀土发光基质、吸收剂/发光中心对和稀土金属螯合物的溶液混合。

46、根据权利要求 35 所述的方法，其特征在于：所述发光基质可溶性盐和吸收剂/发光中心对是通过将相应的氧化物溶于盐酸或硝酸中，除掉剩余的盐酸或硝酸得到的。

47、根据权利要求 35 所述的方法，其特征在于：所述溶液中稀土金属螯合物的量是总稀土金属离子量的 0-1 倍。

48、用二氧化硅同时包覆荧光材料和磁性材料制备纳米荧光磁粒的方法包括下列步骤：

1) 将纳米磁性颗粒和纳米荧光颗粒一起分散在醇溶剂中；

2) 向步骤 1) 中得到的混合物中加入一定量去离子水和一定量 28%（质量百分含量）的浓氨水；

3) 向步骤 2) 中得到的混合物中加入一定量原硅酸乙酯（TEOS），20° C-80° C 反应 0.5-8 小时，得到所述纳米荧光磁粒。

49、根据权利要求 48 所述的方法，其特征在于：所述磁性颗粒为超顺磁、顺磁和铁磁性纳米颗粒，和钴、镍和锰的氧化物纳米颗粒中的一种或其任意组合。

50、根据权利要求 48 所述的方法，其特征在于：所述荧光颗粒的分子式是  $YF_3:Yb, Er$ 。

51、根据权利要求 48 所述的方法，其特征在于：所述荧光颗粒的分子式是  $NaYF_4:Yb, Er$ 。

52、根据权利要求 48 所述的方法，其特征在于：所述荧光颗粒是掺杂荧光物质的二氧化硅。

53、根据权利要求 48 所述的方法，其特征在于：所述纳米颗粒表面修饰有官能团。

54、根据权利要求 53 所述的方法，其特征在于：所述官能团为 -COOH, -CHO, -NH<sub>2</sub>, -SH, -S-S-或环氧基。

55、根据权利要求 48 所述的方法，其特征在于：所述醇为异丙醇。

56、根据权利要求 48 所述的方法，其特征在于：所述纳米磁性颗粒和纳米荧光颗粒通过超声先在去离子水中分散 0.5-1 小时。

# 说明书

## 一种纳米荧光磁粒及其制备方法

### 技术领域

本发明涉及一种多功能纳米颗粒及其制备方法，特别涉及一种同时具有磁响应特性和荧光特性的纳米荧光磁粒及其制备方法。

### 背景技术

生物磁球是广泛应用于免疫分析、基因工程和细胞分离等领域的一种经过表面修饰的磁性微粒。Whitehead、Josephson 等人以铁磁性、超顺磁或顺磁性的氧化铁、氧化钴、氧化镍等磁性物质为核，以吸附或者共价交联的形式形成无机或有机的外壳，并修饰具有生物亲和固定作用的官能团，并和抗体、蛋白等生物分子连接，应用在放射性免疫分析、亲和色谱、酶固定、核酸杂交、细胞分离和其它一些生物物质化验等领域（US patent 4,554,088; US patent 4,672,040, 1985; US patent 4,628,037）。

荧光分析也是很常用的生物技术，经常用于生物分子荧光标记的物质包括有机荧光染料、金属有机物、半导体量子点材料、下转换稀土纳米材料、上转换稀土纳米材料等。

Wang 等曾合成粒径在 1-100 微米的具有磁性的荧光高分子磁粒，利用掺杂的荧光物质的种类和荧光强度对颗粒进行编号。这种高分子颗粒由一个聚合物的核表面均匀包覆一层包含有磁响应金属氧化物高分子层组成，这个磁性物质层在生物化学核免疫学研究中是具有高度敏感的定量试剂。同时颗粒表面可以再包覆一层具有活性官能团的聚合物层。磁性荧光高分子作为标记物和抗原抗体、酶、DNA/RNA 等生物分子联接，作为固相载体应用在核酸杂交、亲和分离、细胞分离等免疫和生物化学领域（US patent 6,013,531）。

Chandler 等合成出粒径在 1-100 微米磁性荧光标记颗粒，它包括荧光或发光材料的微球体和磁性纳米微粒。这种多功能微球体具有同生物分子联接的表面活性，并且通过调节纳米磁球的量和荧光染料的量可合成出一系列不同性能的微球体，可以在包括临床生物化验在内的诸多领域得到应用（US patent Appl. No.: 09/826,960）。

### 发明创造内容

本发明的目的是提供一种具有磁响应特性和荧光特性的纳米荧光磁粒。

本发明所提供的纳米荧光磁粒，是一种包括核颗粒，且小于 1 微米的纳米颗粒，所述核颗粒包括磁性物质和荧光物质。

其中，上述纳米荧光磁粒可小于 750 纳米，500 纳米，或 300 纳米，具体说，在

一些情况下，可为 35nm-200nm，在另一些情况下，可为 80-200nm。

上述磁性物质可包括超顺磁、顺磁或者铁磁性物质或金属氧化物。具体说，主要是一些金属氧化物，比如钴、镍、锰和铁氧化物；更具体来说，这些金属氧化物有  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 、 $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ 。

上述纳米荧光磁粒的饱和磁化强度可为 5emu/g-60emu/g。所述荧光物质可为荧光染料，荧光金属有机化合物，上转换荧光材料，下转换荧光材料和量子点荧光材料中的一种或其任意组合。其中，上转换荧光材料是氟化物荧光材料或包括钼酸盐荧光材料。氟化物荧光材料的分子式为  $\text{YF}_3:\text{Yb}, \text{Er}$  或  $\text{NaYF}_4:\text{Yb}, \text{Er}$ ；下转换荧光材料是  $\text{CaS}:\text{Eu}^{3+}$  或  $\text{SiAlO}_2:\text{Eu}^{3+}$ ；量子点荧光材料是  $\text{CdSe}/\text{CdS}$ ， $\text{ZnS}/\text{CdSe}$ ，和  $\text{GaAs}$  中的一种或其任意组合。

所述荧光物质也可为荧光纳米颗粒。其中所述荧光纳米颗粒为掺杂荧光染料或量子点荧光材料的高分子颗粒或二氧化硅颗粒。

上述核颗粒可有各种不同的结构，例如，上述核颗粒可包括表面包覆荧光材料的磁性颗粒或包覆磁性物质的荧光颗粒、掺杂磁性物质的荧光颗粒或掺杂荧光物质的磁性颗粒；所述核颗粒还可包括磁性颗粒，荧光颗粒和将这两种颗粒交联起来的物质，所述交联物质可为二氧化硅。所述核颗粒还可具有包覆层，该包覆层可为二氧化硅，这个包覆层的厚度可以调节，同时，颗粒的粒径大小和饱和磁化强度可以通过控制包覆层的厚度来控制。

所述纳米荧光磁粒表面可修饰有官能团，该官能团可为  $-\text{COOH}$ ， $-\text{CHO}$ ， $-\text{NH}_2$ ， $-\text{SH}$ ， $-\text{S}-\text{S}-$ 和环氧基等。所述纳米荧光磁粒还可连接有生物分子，该生物分子可通过共价键与所述纳米荧光磁粒连接；该生物分子可为氨基酸，肽，蛋白质，核苷，核苷酸，寡聚核苷酸，核酸，维生素，单糖，低聚糖，多糖和脂类中的一种或其复合物。这些生物分子可以直接通过化学键合作用结合到纳米颗粒表面，也可以通过的一些生物分子（例如生物素、链亲合素和蛋白 A）结合到纳米颗粒的表面。

本发明的纳米荧光磁粒可分别与硅烷化试剂 3-氨丙基三甲氧基硅烷（APS）、3-缩水甘油醚氧基丙基三甲氧基硅烷（GPMS）、3-甲基丙烯酰氧基丙基三甲氧基硅烷（MPS）、3-巯基丙基三甲氧基硅烷（MPTS）等进行反应，可以分别得到表面修饰有氨基、环氧基、甲基丙烯酰氧基、巯基等的荧光磁球，另外表面带有环氧基的荧光磁球经过 0.01mol/L 的盐酸溶液酸化、0.2mol/L 的高碘酸钠溶液氧化得到表面修饰醛基的纳米荧光磁粒。

所述纳米荧光磁粒可以具有各种可能的形状，比如，方型、圆型，椭圆型或者别的规则或不规则形状，优选为球型。

本发明的第二个目的是提供两种制备所述纳米荧光磁粒的方法。

第一种方法是制备包括包覆有氟化物荧光材料的磁性颗粒的纳米荧光磁粒的方法，包括下述步骤：

- 1) 将纳米磁性颗粒和水溶性氟化物同时溶解分散在去离子水中；
- 2) 将所述步骤 1) 中的溶液加入另一溶液中，搅拌，以在所述纳米磁性颗粒表面形成氟化物沉淀包覆物；所述另一溶液包括发光基质可溶性盐、吸收剂/发光中心对和金属螯合物；
- 3) 将步骤 2) 所述纳米磁性颗粒和沉淀包覆物在  $300^{\circ}\text{C}$ - $450^{\circ}\text{C}$  煅烧 1-10 小时，得到表面包覆氟化物的纳米荧光磁性颗粒，所述氟化物能在长波长的红外光下激发下而发射可见光。

该制备方法，还可以进一步包括对上述步骤 3) 中得到的纳米荧光磁性颗粒进行二氧化硅包覆，包括对二氧化硅包覆后的纳米颗粒进行表面的官能团修饰，该官能团可为  $-\text{COOH}$ ， $-\text{CHO}$ ， $-\text{NH}_2$ ， $-\text{SH}$ ， $-\text{S-S-}$  和环氧基等。

本方法中，还可以包括进一步在所述纳米荧光磁粒表面固定类似生物分子等任何需要的物质。比如，将生物分子固定在二氧化硅包覆的纳米颗粒表面。任何合适的生物分子都可以，比如氨基酸，肽，蛋白质，或者核苷，核苷酸，寡聚核苷酸，核酸，维生素，单糖，低聚糖，多糖，脂类或者是这些物质的复合物。

步骤 1) 中所述纳米磁性颗粒和水溶性氟化物可通过类似超声等方法分散在去离子水中，该水溶性氟化物可为任何合适的可溶性氟化物，如可为  $\text{NaF}$ ， $\text{KF}$ ， $\text{NH}_4\text{F}$  和  $\text{HF}$  中的一种，该水溶性氟化物可预先溶解或者同时和稀土发光基质、吸收剂/发光中心对和稀土金属螯合物的溶液混合。步骤 2) 中，可以使用任何合适的发光基质，例如钇，镧或钕等；本发明可以使用任何合适的吸收剂，例如镱；本发明可以使用任何合适的发光中心，例如铈，铥，铕或铽等；本发明可以用任何合适的稀土金属螯合剂，比如羧酸类络合剂，如所述稀土金属螯合物可为乙二胺四乙酸 (EDTA) 及其钠盐，二乙三胺五乙酸 (DTPA) 及其钠盐，羟乙基乙二胺三乙酸 (HEDTA) 及其钠盐，1, 2-二胺基环己烷四乙酸 (DCTA) 及其钠盐，乙二醇二乙醚二胺四乙酸 (EGTA) 及其钠盐，三乙其四胺六乙酸 (TTA) 及其钠盐中的一种；所述发光基质可溶性盐和吸收剂/发光中心对可以通过合适的方法进行配制，例如，可通过将相应的氧化物溶于盐酸或硝酸中，除掉剩余的盐酸或硝酸得到的；所述溶液中稀土金属螯合物和总稀土离子的量可以按照一定合适的配比，例如溶液中稀土金属螯合物的量是总稀土金属离子量的 0-1 倍。

第二种方法是用二氧化硅同时包覆荧光颗粒和磁性颗粒制备纳米荧光磁粒的方



法，包括下列步骤：

- 1) 将纳米磁性颗粒和纳米荧光颗粒一起分散在醇溶剂中；
- 2) 向步骤 1) 中得到的混合物中加入一定量去离子水和一定量 28% (质量百分含量) 的浓氨水；
- 3) 向步骤 2) 中得到的混合物中加入一定量原硅酸乙酯 (TEOS)，20° C-80° C 反应 0.5-8 小时，得到所述纳米荧光磁粒。

本方法中，还可以包括进一步在所述纳米荧光磁粒表面固定类似生物分子等任何需要的物质。比如，将生物分子固定在二氧化硅包覆的纳米颗粒表面。任何合适的生物分子都可以，比如氨基酸，肽，蛋白质，或者核苷，核苷酸，寡聚核苷酸，核酸，维生素，单糖，低聚糖，多糖，脂类或者是这些物质的复合物。

本方法可以用任何磁性的纳米颗粒，如所述磁性颗粒可为超顺磁、顺磁和铁磁性纳米颗粒，具体可为钴、镍和锰氧化物纳米颗粒中的一种或其任意组合

其中，所述荧光磁粒表面可以修饰有一些官能团，如该官能团可为 -COOH, -CHO, -NH<sub>2</sub>, -SH, -S-S- 或环氧基等。所述荧光颗粒的分子式可为 YF<sub>3</sub>:Yb, Er 或 NaYF<sub>4</sub>:Yb, Er, 所述荧光颗粒可为掺杂荧光物质的二氧化硅。

步骤 1) 中所述醇可为异丙醇。所述纳米磁性颗粒和纳米荧光颗粒可通过超声先在去离子水中分散 0.5-1 小时。

本发明的纳米荧光磁粒具有以下优点：

1) 本发明的纳米荧光磁粒可以达到纳米级，根据加入纳米磁粒和纳米荧光材料的颗粒情况，包覆的厚度，可以控制纳米荧光磁粒的粒径在 50-200nm 之间。

2) 本发明的纳米荧光磁粒，具有很强的磁性，饱和磁化强度在 5-55emu/g 之间，并且可以通过改变包覆的厚度进行调节，矫顽力较小（例如在 20G 以下），满足对生物分子分离的要求。

3) 本发明的纳米荧光磁粒，如果选用无机纳米荧光材料，则用于标记生物分子，和常用的荧光染料相比，具有荧光强度高，斯托克斯位移大，检测背景低等突出优点，特别是使用上转换荧光纳米材料，具有上转换荧光的优点，即在长波长（980nm 左右）下激发，不会对所标记的生物分子造成不利影响，并且灵敏度高。

4) 本发明的纳米荧光磁粒，根据需要，表面可以修饰氨基、醛基、环氧基等不同的官能团，便于和蛋白、核酸等生物分子的联接。

5) 本发明的纳米荧光磁粒所采用的无机纳米荧光材料，可以同时作为固相载体和荧光标记物。它可用于细胞分离和检测、核酸杂交和检测、抗体的提取和检测等领域。

本发明的纳米荧光磁粒可同时作为固相输送载体（通过磁铁起到驱动的作用），和荧光标记物标记检测各种生物成分；可广泛应用于免疫测试、DNA/RNA 杂交、亲和纯化、细胞分离和其它医学、诊断和工业领域。

### 附图说明

图 1 为具有三层式结构的纳米荧光磁粒的结构示意图

图 2 为以磁性物质和荧光物质结合物为核的两层式纳米荧光磁粒的结构示意图

图 3 为包含有荧光纳米颗粒、磁性纳米颗粒和另外一种把这两种物质结合在一起的物质的纳米荧光磁粒

图 4 为纳米上转换荧光磁粒的 20 万倍透射电镜图

图 5 为纳米上转换荧光磁粒的 8 万倍透射电镜图

图 6 为纳米上转换荧光磁粒的 8 万倍透射电镜图

图 7 为纳米上转换荧光磁粒的磁滞回线图

图 8 为纳米上转换荧光磁粒的上转换荧光发射曲线

图 9 为  $\text{Ca:Eu}^{3+}$  材料荧光激发发射曲线及合成的  $\text{CaS:Eu}^{3+}$  纳米下转换荧光磁粒激发发射荧光曲线图

图 10 为三层式纳米上转换荧光磁粒 5 万倍透射电镜图

图 11 为三层式纳米上转换荧光磁粒 10 万倍透射电镜图

图 12 为三层式纳米上转换荧光磁粒的上转换荧光发射曲线

图 13 为三层式纳米上转换荧光磁粒磁滞回线图

### 具体实施方式

#### 定义

除非另有说明，本发明所提到的科学技术术语均和所属行业的一般人员的理解一致。此处提及的所有专利、申请、公开申请和其他出版物均作为参考全部保留。如果本发明提出的定义与专利、申请、公开申请和其他出版物相反或不一致，以此处定义为准。

“一种”表示“至少有一种”。

“荧光材料”表示在光激发下能发光的固态无机晶体物质。

“发光基质”指的是三种荧光材料中没有参与光的吸收和发射的一种（通常是主要的那种），但是它为其它两种组分提供了基质环境。

“吸收剂/发光中心对”指的是发光基质中负责吸收长波长光子，发射短波长光子而完成上转换过程的这对成分。

#### 实施例 1、三种纳米荧光磁粒

### 1) 具有三层式结构的纳米荧光磁粒

其结构如图 1 所示, 包括纳米级磁性颗粒 1, 荧光物质层 2, 外壳 3。纳米级磁性颗粒 1 为  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , 荧光物质层 2 为  $\text{NaYF}_4:\text{Yb}, \text{Er}$ , 外壳 3 由二氧化硅组成。

### 2) 以磁性物质和荧光物质结合物为核的两层式纳米荧光磁粒

其结构如图 2 所示, 包括核颗粒, 由荧光物质层 2  $\text{NaYF}_4:\text{Yb}, \text{Er}$  和  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  1 组成, 外壳 3 由二氧化硅组成。

3) 包含有荧光纳米颗粒、磁性纳米颗粒和另外一种把这两种物质结合在一起的物质二氧化硅。

其结构如图 3 所示, 包括荧光纳米颗粒  $\text{NaYF}_4:\text{Yb}, \text{Er}$  2、纳米磁性颗粒  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  1 和把这两种物质结合在一起的二氧化硅 3。

### 实施例 2、纳米上转换荧光磁粒的制备

1) 1.622g  $\text{FeCl}_3$  和 5.560g  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  溶解于 200ml 去氧蒸馏水中, 所用蒸馏水通  $\text{N}_2$  鼓泡赶去水中溶解氧过夜, 形成  $[\text{Fe}^{3+}] = 0.05\text{mol/L}$ ,  $[\text{Fe}^{2+}] = 0.10\text{mol/L}$ , 加入 1.0g 聚乙二醇-4000, 并超声 30min, 在  $60^\circ\text{C}$  的油浴加热中快速搅拌, 快速加入 10ml 28% 浓氨水, 整个反应过程在  $\text{N}_2$  气氛中进行, 强力搅拌 30min, 反应结束, 用磁性分离架分离固液两相, 并用去离子水和乙醇多次洗涤所得磁性微粒,  $60^\circ\text{C}$  真空干燥, 过夜。研磨得到暗黄色磁性纳米颗粒。

2) 取上述步骤 1) 合成磁性纳米颗粒 15mg, 和按照中国专利 (衣光舜等, 申请号: 02116679.X) 制备的纳米上转换荧光材料  $\text{YF}_3$  掺  $\text{Er}^{3+}$  15mg, 分散在 100ml 异丙醇中, 并超声分散 30min 以上, 使两种颗粒充分分散成比较均一的溶液体系, 加入 8.94ml 28% 浓氨水为催化剂, 去离子水 7.4ml,  $40^\circ\text{C}$  油浴加热, 温度稳定后, 加入原硅酸乙酯 (TEOS) 0.2ml, 搅拌反应 3 小时, 用磁性分离架分离两相, 并用异丙醇、水、乙醇洗涤合成的产品多次,  $110^\circ\text{C}$ , 真空干燥 7 小时。得到具有上转换荧光的纳米荧光磁粒。其透射电镜照片如图 4-6 所示, 表明该纳米荧光磁粒的平均直径为 100nm; 其磁性响应特性如图 7 所示, 其饱和磁化强度 25.885emu/g, 矫顽力 15.56G; 其荧光发射特性如图 8 所示, 表明该纳米荧光磁粒在 980nm 的长波长光的激发下, 可发射出较高强度的 539nm 的绿光和 658nm 的红光。

### 实施例 3、纳米下转换荧光磁粒的制备

1) 称取 30mg 合成的  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  纳米颗粒, 30mg  $\text{CaS}:\text{Eu}^{3+}$  稀土纳米材料, 分散于 80ml 异丙醇中, 超声分散 30min。加入 8.94ml 浓氨水, 7.5ml 去离子水,  $40^\circ\text{C}$  油浴加热, 搅拌, 加入原硅酸乙酯 0.15ml, 反应 2 小时。

2) 用磁性分离架分离固液两相, 并用异丙醇洗涤多次,  $60^\circ\text{C}$  真空干燥, 6 小时,

得到发红光的纳米荧光磁粒。

所合成的纳米下转换荧光磁粒的荧光发射特性如图 9 所示，荧光强度在 400a. u. 左右的曲线 1、2、3 是荧光材料  $\text{CaS}:\text{Eu}^{3+}$  本身的激发发射曲线，强度在 120a. u. 的是纳米下转换荧光磁球的激发发射曲线，可见在 420nm-580nm 的可见光激发下，发出 683nm 的红光。

#### 实施例 4、氨基纳米上转换荧光磁粒的制备

1) 称取 30mg 合成的  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  纳米颗粒，20mg 上转换荧光纳米材料  $\text{YF}_3$  掺  $\text{Er}^{3+}$ ，分散于 80ml 异丙醇中，超声 35min，加入 8.94ml 浓氨水，7.5ml 去离子水，40℃油浴加热，搅拌，加入原硅酸乙酯 0.1ml，反应 2 小时。

2) 2 小时后，再加入 0.1ml 3-氨基丙基三甲氧基硅烷 (APS)，继续反应 1 小时。

3) 用磁性分离架分离，异丙醇和水洗涤多次，50℃真空干燥，得到表面修饰有氨基的纳米荧光磁粒的制备。

#### 实施例 5、醛基纳米上转换荧光磁粒的制备

1) 称取 30mg 合成的  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  纳米颗粒，30mg 上转换荧光纳米材料  $\text{YF}_3$  掺  $\text{Er}^{3+}$ ，分散于 160ml 异丙醇中，超声 30min，加入 17.8ml 浓氨水，15ml 去离子水，40℃油浴加热，搅拌，加入原硅酸乙酯 0.1ml，反应 2 小时。

2) 磁性分离架分离产品，并用异丙醇和水洗涤多次，丙酮洗涤一次，加入 10% 的 3-缩水甘油醚氧基丙基三甲氧基硅烷 (GPMS) 的甲苯溶液 3ml，在摇床上，反应过夜，并用甲苯，丙酮洗涤多次，磁性分离架分离。110℃真空干燥 2 小时。

3) 加入 4ml 浓度为 0.01mol/L 的盐酸溶液，摇床上振荡反应 0.5 小时，然后用水洗若干次，加入 4ml 浓度为 0.2mol/L 的高碘酸钠溶液，氧化反应 1 小时，水洗，分离，60℃真空干燥 7 小时。得到表面修饰有醛基的上转换纳米荧光磁粒。

#### 实施例 6、环氧基纳米上转换荧光磁粒的制备

1) 称取 30mg 合成的  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  纳米颗粒，30mg 上转换荧光纳米材料  $\text{YF}_3$  掺  $\text{Er}^{3+}$ ，分散于 160ml 异丙醇中，超声 35min，加入 17.8ml 浓氨水，15ml 去离子水，40℃油浴加热，搅拌，加入原硅酸乙酯 0.1ml，反应 2 小时。

2) 再加入 0.1ml 3-缩水甘油醚氧基丙基三甲氧基硅烷 (GPMS)，继续反应 1 小时后，用磁性分离架分离，并用异丙醇，水洗涤多次，60℃真空干燥 6 小时，得到表面修饰有环氧基的上转换纳米荧光磁粒。

#### 实施例 7、薄壁纳米上转换荧光磁粒的制备

1) 称取 30mg 合成的  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  纳米颗粒，30mg 上转换荧光纳米材料  $\text{YF}_3$  掺  $\text{Er}^{3+}$ ，分散于 160ml 异丙醇中，超声 30min，加入 17.8ml 浓氨水，15ml 去离子水，40℃油浴加

热, 搅拌, 加入原硅酸乙酯 0.05ml, 反应 2 小时。

2) 用磁性分离架分离, 并用异丙醇, 水洗涤多次, 60℃真空干燥 7 小时, 得到二氧化硅包覆壁较薄的上转换纳米荧光磁粒。

#### 实施例 8、厚壁纳米上转换荧光磁粒的制备

1) 称取 30mg 合成的  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  纳米颗粒, 30mg 上转换荧光纳米材料  $\text{YF}_3$  掺  $\text{Er}^{3+}$ , 分散于 160ml 异丙醇中, 超声 40min, 加入 17.8ml 浓氨水, 15ml 去离子水, 40℃油浴加热, 搅拌, 加入原硅酸乙酯 0.2ml, 反应 2 小时。

2) 用磁性分离架分离, 并用异丙醇, 水洗涤多次, 60℃真空干燥 8 小时, 二氧化硅包覆壁较厚的上转换纳米荧光磁粒。

#### 实施例 9、三层式纳米上转换荧光磁粒的制备

1) 称取 100mg  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  纳米磁粒, 2.1gNaF 固体, 溶解在 120ml 去离子水中, 超声 40min, 使  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  纳米颗粒充分在水中均匀分散, 形成均一体系, 并搅拌。

2) 配制体积比  $\text{YCl}_3:\text{YbCl}_3:\text{ErCl}_3=16:3.4:0.6$  的稀土混和溶液 20ml, 溶液浓度都是 0.2mol/L, 在加入 1) 中溶液前, 加入 20ml, 0.2mol/L 的 EDTA 溶液, 混和后, 迅速加入 1) 溶液中, 剧烈搅拌反应 1 小时。

3) 用磁性分离架分离出固相中有磁性的部分, 并用去离子水冲洗多次, 干燥后, 转入马福炉中在 400℃煅烧 5 小时, 并通纯  $\text{H}_2$ , 得到两层式纳米荧光磁粒。

4) 称取 50mg 上述两层式纳米荧光磁粒, 分散在 80ml 异丙醇中, 并超声分散 30min, 使磁球均匀分散在溶液中, 加入 7.5ml 去离子水, 8.94ml 浓氨水, 搅拌, 加热到 40℃, 加入 0.1 原硅酸乙酯 (TEOS), 反应 3 小时。用磁性分离架分离出磁性部分粉末, 并用去离子水洗涤多次, 110℃真空干燥得到粒径在 80-200nm 的三层式纳米上转换荧光磁粒。

其透射电镜照片如图 10-11 所示, 表明该纳米荧光磁粒的平均直径为 140nm; 其磁性响应特性如图 13 所示, 表明其饱和磁化强度为 5.248emu/g, 矫顽力为 39.28G; 其荧光发射特性如图 12 所示, 表明该纳米荧光磁粒在 980nm 的长波长光的激发下, 可发射出较高强度的 543nm 绿光和 663nm 的红光。

#### 实施例 10、纳米 FITC 荧光磁粒的制备

1) 称取 30mg 合成的  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  纳米颗粒, 20mg 包被有荧光染料 FITC 的二氧化硅纳米小球, 分散于 160ml 异丙醇中, 超声 40min, 加入 17.8ml 浓氨水, 15ml 去离子水, 40℃油浴加热, 搅拌, 加入原硅酸乙酯 0.1ml, 反应 2 小时。

2) 再加入 0.1ml 3-缩水甘油醚氧基丙基三甲氧基硅烷 (GPMS), 继续反应 1 小时后, 用磁性分离架分离, 并用异丙醇, 水洗涤多次, 60℃真空干燥 6 小时以上, 得到

16  
表面修饰有环氧基的 FITC 荧光磁球。

3) 在上述产品中加入  $0.01\text{mol/L}$  的盐酸溶液，摇床上振荡反应 0.5 小时，然后用水洗若干次，加入 4ml 浓度为  $0.2\text{mol/L}$  的高碘酸钠溶液，氧化反应 1 小时，水洗，分离， $60^{\circ}\text{C}$  真空干燥 6 小时。得到表面修饰有醛基的 FITC 纳米荧光磁粒。

说明书附图

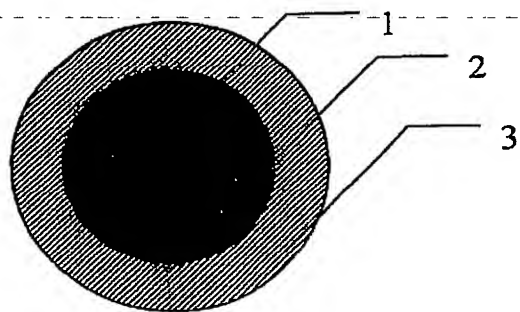


图 1

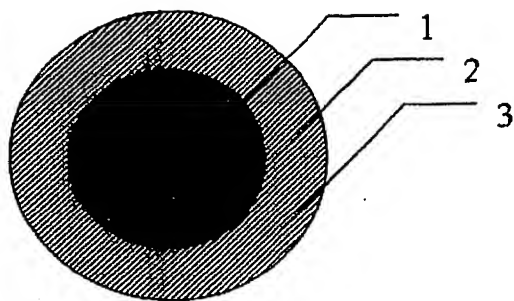


图 2

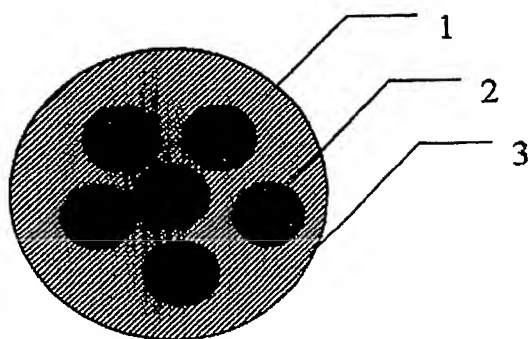


图 3



图 4



图 5



图 6

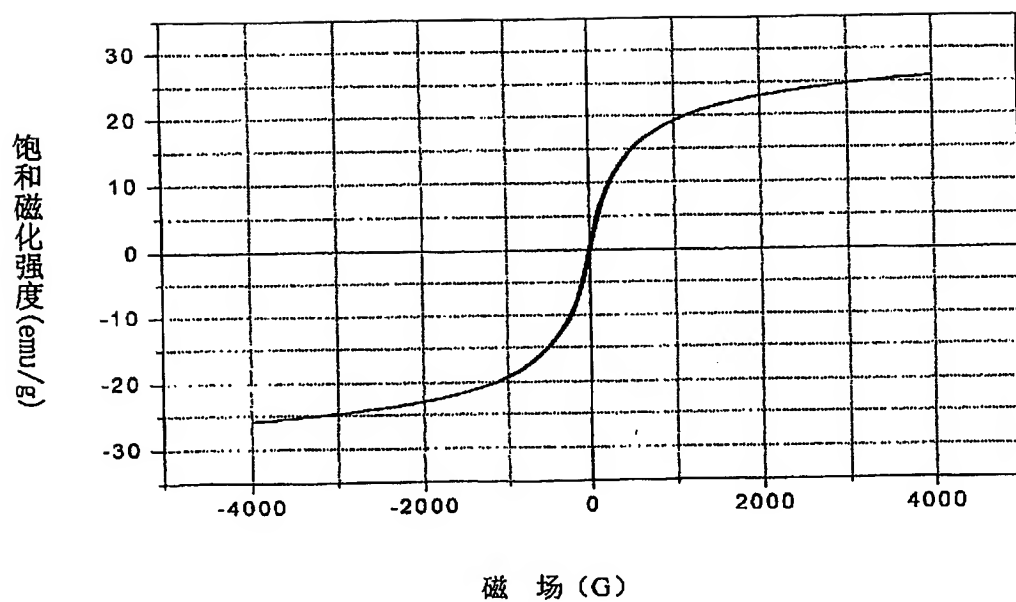


图 7



19

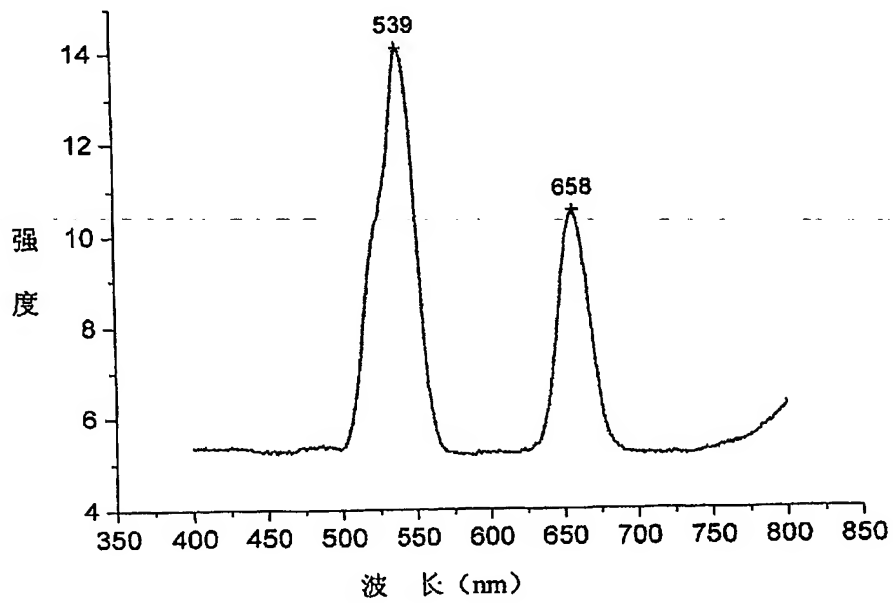


图 8

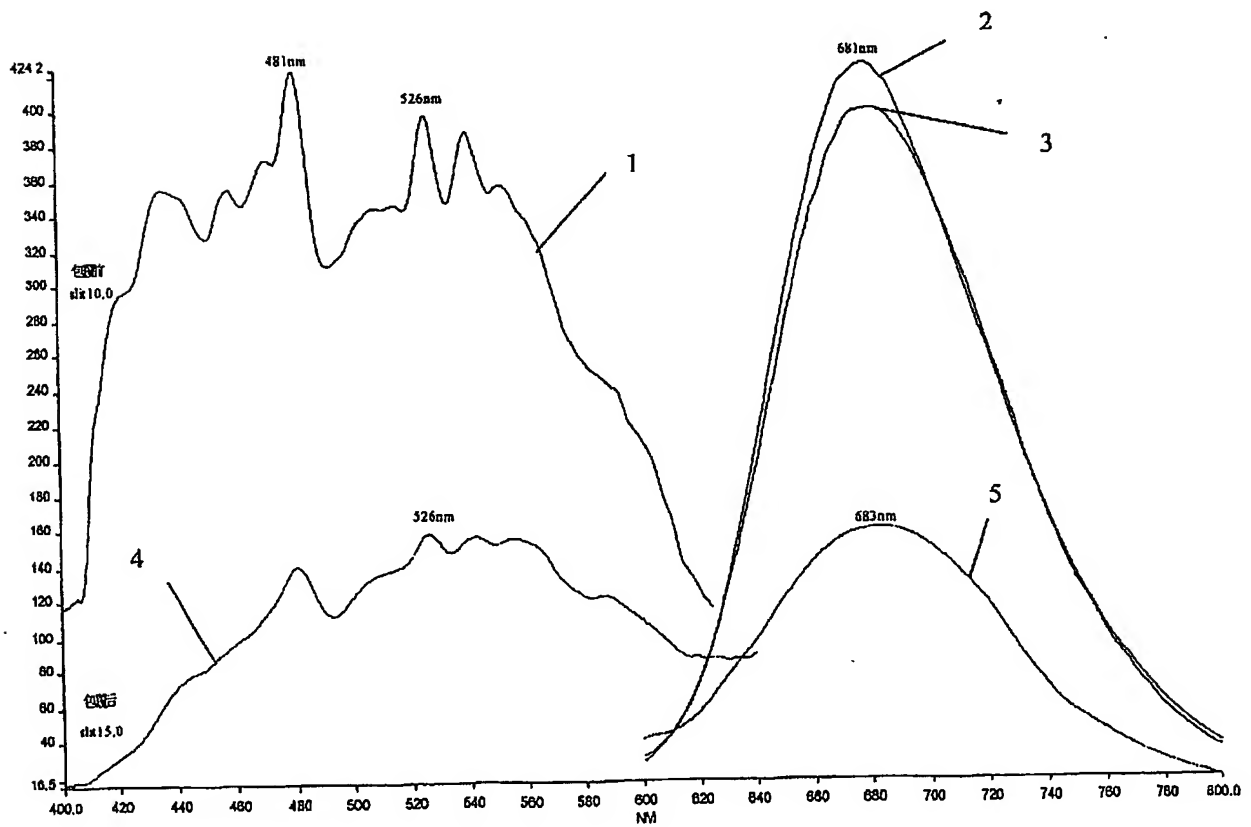


图 9

20

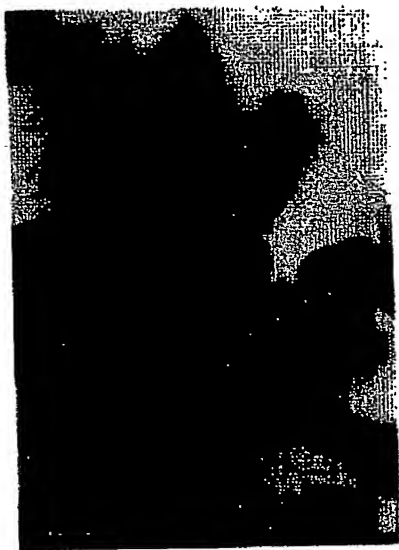


图 10

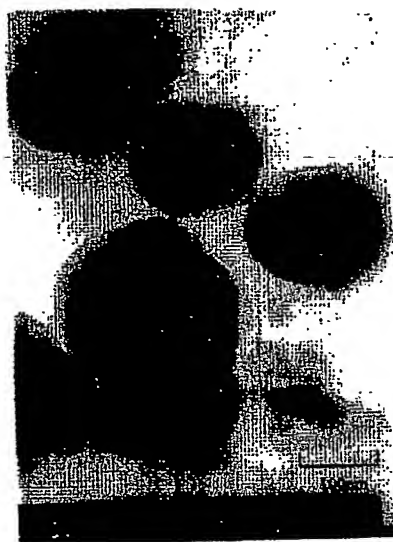


图 11

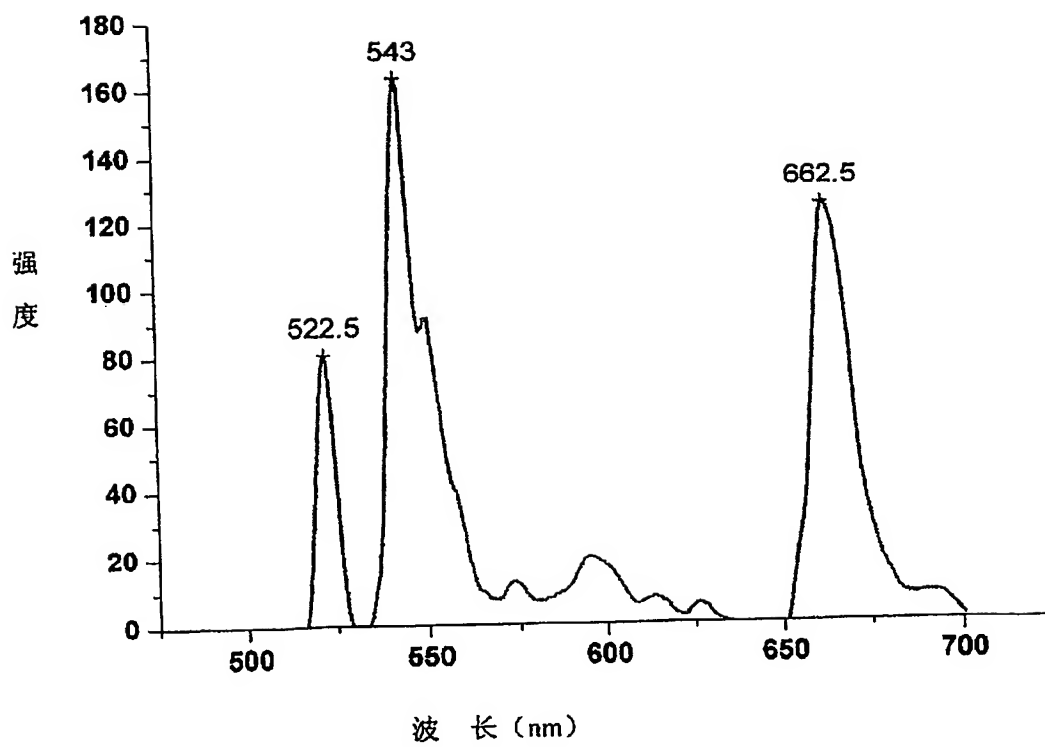


图 12

21

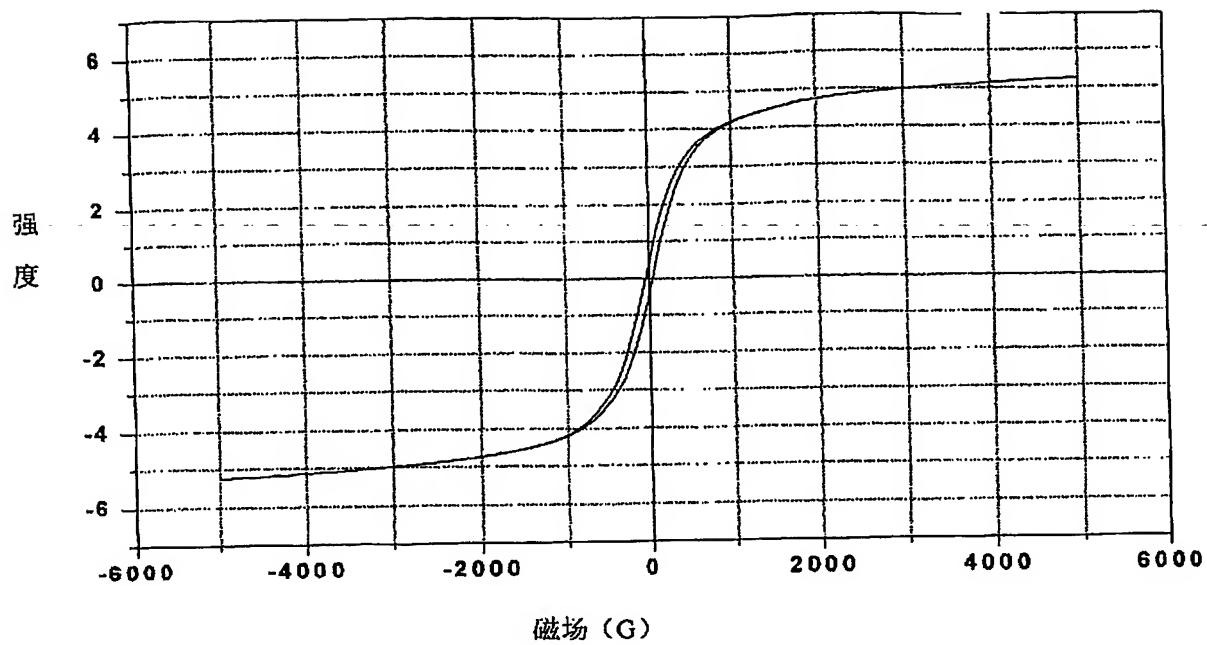


图 13

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**